

Pourquoi les schémas de coagulation sont-ils faux ?

Citation for published version (APA):

Hemker, H. C., & Beguin, S. (1994). Pourquoi les schémas de coagulation sont-ils faux ? *Sang Thrombose Vaisseaux*, 6(9), 619-625.

Document status and date:

Published: 06/11/1994

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Pourquoi les schémas de coagulation sont-ils faux ?

Un schéma de la coagulation tente ici de représenter le mécanisme des réactions intriquées qui aboutissent à la formation explosive de thrombine là où l'obstruction d'une brèche s'avère nécessaire tout en prévenant la formation de thrombus susceptible d'endiguer la circulation sanguine. Le processus se déroulant essentiellement selon trois axes, un schéma serait insuffisant. Le mécanisme classique de thrombinoformation, fait de conversions séquentielles proenzyme-enzyme constitue l'axe générateur ; le deuxième axe « régulateur » correspondant à l'activation et l'inactivation du facteur V, gouverne la vitesse à laquelle la formation de thrombine est modulée, tandis que le troisième axe focalise l'ensemble des réactions à l'endroit requis, c'est-à-dire au site de la plaie.

Sont également abordés ici le mécanisme déclencheur lié au facteur tissulaire, de même que son système inhibiteur (TFPI) ainsi que la boucle de renforcement (boucle Josso), qui, absente chez les hémophiles, prévient le saignement dans des tissus pauvres en facteur tissulaire.

L'inhibition de la thrombine étant aussi importante que sa génération, nous proposons une méthode d'évaluation du « Potentiel de Thrombine Endogène » (PTE). Ce paramètre reflète l'effet conjoint des deux processus (formation-inhibition). Le PTE est diminué par toute thérapeutique anticoagulante et est augmenté par tout état prothrombotique (contraception orale, déficit en antithrombine, protéine S ou C, etc.). La détermination de cette variable sera d'ici peu à la portée des laboratoires de routine.

Il est également mentionné le processus responsable de la localisation du phénomène au siège d'une plaie. Il est dû essentiellement au fait que les facteurs de coagulation s'adsorbent à une surface phospholipidique qui contient des phosphatidylsérines (PS), normalement disponibles, seulement à la face interne de la membrane cellulaire intacte. Lors d'une plaie les cellules lésées rendent les PS disponibles. Seule la plaquette est capable d'exposer des PS à sa surface intacte, lors de son activation, par le mécanisme dit de « flip-flop ».

Enfin nous introduisons le concept de la coagulation extravasculaire latente et continue, hypothèse qui présume dans l'espace extracellulaire de la présence d'une très faible concentration de thrombine qui expliquerait l'apparition des premiers facteurs activés lors de la survenue de la brèche vasculaire.

HENRIK COENRAAD HEMKER
SUZETTE BÉGUIN

H.C. Hemker, S. Béguin, laboratoire de biochimie, institut de recherches cardiovasculaires (CARIM) et faculté de médecine, université du Limbourg, Maastricht, Pays-Bas.

Tirés à part : H.C. Hemker

Mots-clés : coagulation, thrombine, enzymologie, régulation.

Références

Dans un article comme celui-ci il nous semble inutile de donner une bibliographie plus ou moins complète. Nous nous limitons à donner quelques revues générales qui permettent de retrouver la littérature originale.

1. Rapaport SI. Introduction to hematology. JB Lippincott, Philadelphia Hemker, deuxième édition 1987; 432-558.

2. HC. Thrombin generation, an essential step in haemostasis and thrombosis. In: AL Bloom, CD Forbes, DP Thomas, EGD Tuddenham eds. *Haemostasis and Thrombosis*. 3rd ed. London: Churchill Livingstone, 1993; 477-90.

3. Schroit A, Zwaal RFA. Transbilayer movements of phospholipids in red cell and platelet membranes. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1071: 313-29.

Les données du tableau I proviennent pour la plupart de:

4. Scientific and standardisation committee ISTH. Nomenclature of quantities and units in thrombosis and haemostasis. *Thromb Haemostas* 1994; 71: 375-94.

Il est rare de rencontrer des schémas de coagulation qui soient vraiment faux mais il est aussi rare d'en trouver de tout à fait corrects. À la plupart d'entre eux on peut reprocher d'être trop « anatomiques », c'est-à-dire de représenter correctement les interactions biochimiquement possibles sans pour autant refléter le fonctionnement « physiologique » de l'ensemble. Néanmoins tout l'intérêt, tant scientifique que médical, du système remarquable qu'est la coagulation sanguine demeure dans sa physiologie chimique. Comment une série d'interactions enzymatiques peut-elle arriver à produire une formation explosive de thrombine précisément là où il est nécessaire de fermer une brèche et, en même temps, prévenir que se forment des thrombus qui empêchent la circulation sanguine? Un bon schéma de coagulation doit donner, ou tout au moins ébaucher, une réponse à cette question.

Il faut avouer que nous ne pouvons pas apporter une réponse complète. La coagulation sanguine étant un sujet de recherche en pleine évolution, il y a encore de nombreux détails que nous ignorons. La réponse d'aujourd'hui ne sera pas celle de demain. L'important est que ce ne soit pas celle d'hier.

La coagulation sanguine est l'exemple type d'un grand système enzymatique dont la fonction est régulée d'une façon extrêmement précise. Son étude nous enseigne beaucoup sur la physiologie chimique de l'interaction entre les enzymes dans ce genre de système, domaine encore mal exploré de la biologie. Les progrès hallucinants de la biologie moléculaire nous révèlent la structure des protéines. Elle est pourtant beaucoup moins utile pour la compréhension de la coopération entre les protéines dans un système enzymatique aussi compliqué. L'étude de la physiologie chimique vient après les études d'anatomie moléculaire. L'étude de la coagulation est l'exemple type d'un exercice en physiologie chimique fonctionnelle, discipline qui doit succéder et compléter les études de structure et de biologie moléculaire.

Pour la médecine, la connaissance poussée de la coagulation est d'une utilité sans égale. Connaître les vis de réglage de la coagulation revient

à découvrir le code secret de l'ennemi qui est la thrombose et permettrait de l'attaquer efficacement. Tout schéma moderne de la coagulation doit donc refléter une idée de la régulation de la thrombinoformation. Hélas, dans le souci d'être complets, la plupart des schémas de la coagulation rappellent plutôt l'image d'un nœud ferroviaire. Sans explication, le non-initié ne comprendra jamais comment cela fonctionne. Essayons donc de trouver un schéma qui tient compte des dernières découvertes dans le domaine et qui rend justice aux systèmes d'autorégulations positives et négatives qui font la beauté intrinsèque du mécanisme de la coagulation.

Il n'y a qu'une voie!

La plupart des schémas de la coagulation s'obstinent à représenter une voie intrinsèque et une voie extrinsèque. C'est un respect de l'historique qui entraîne loin dans l'incompréhension de la fonctionnalité. Dans les années cinquante ces deux voies ont été conçues pour expliquer l'observation suivante: la coagulation spontanée du sang dans un tube de verre prend quelques minutes, mais est réduite à douze secondes si l'on ajoute une substance absente dans le sang même, donc extrinsèque, sous forme d'un extrait de tissu (= thromboplastine). Ces douze secondes ne représentent rien d'autre que le fameux « temps de Quick » (Armand Quick, États-Unis, 1900-1980). Le mécanisme spontané (facteurs uniquement intrinsèques) s'annonce d'autant plus important qu'il est dépendant des facteurs antihémophiliques, contrairement au système extrinsèque. Maintenant on sait que *in vivo* la réaction du facteur tissulaire avec le plasma est l'unique déclencheur de la coagulation. La « bonne » nouvelle est donc qu'il n'y a qu'une voie physiologique et que l'on peut rayer du tableau les facteurs XII, XI, HMWK et PK* qui n'interviennent dans la génération de la thrombine que dans le cas d'un contact avec des surfaces non

* Pour les abréviations voir tableau I.

Tableau I. Les facteurs de coagulation (d'après [3])

Symbole	Nom	Poids Mol. (kDa)	Conc. (nM)	Conc. (µg/ml)
I	Fibrinogène	340	7 000	2 400
II	Prothrombine	68,7	1 500	100
V	Facteur V	330	30	10
VII	Facteur VII	48	10	0,5
VIII	Facteur VIII ou Antihémophilique A	330	1	0,3
IX	Facteur IX ou Antihémophilique B	55,4	80	4,5
X	Facteur X	59	160	10
XI	Facteur XI	2 x 80	30	5
XII	Facteur XII	80	370	30
XIII	Facteur stabilisant de la fibrine	320	90	30
PK	Prékallikréine	86	500	45
HMWK	Kininogène de haut poids moléculaire	120	700	85
Prot. C	Protéine C	57	70	4
Prot. S	Protéine S	75	300	22
	idem libre		120	9
TFPI	Inhibiteur du facteur tissulaire	40	2,5	0,1
AT III	Antithrombine (III)	65	2 000	130
HCII	Cofacteur II de l'héparine	65	1 000	35
α_2 M	α_2 macroglobuline	750	3700	2700
α_1 AT	α_2 antitrypsine	52	25 000	1 250

naturelles telles que le verre. (Cela avec une réserve pour le facteur XI dont le rôle est encore discuté).

Mais que dire donc des facteurs antihémophiliques? Ils ont bien leur rôle dans le système dit « extrinsèque », mais les conditions d'un test de Quick sont telles que l'on ne peut pas l'observer. Le temps de Quick se mesure avec une quantité optimale de thromboplastine, ce qui ne représente pas nécessairement une situation physiologique fréquente. Déjà en 1963 François Josso (France, 1927-1981) a pu démontrer que les facteurs antihémophiliques servent de mécanisme de secours, là où la quantité de facteur tissulaire disponible ne peut pas assurer une thrombinoformation suffisante. Ceci est la boucle de renforcement ou boucle Josso, absente chez les hémophiles et qui permet de comprendre pourquoi ces malades saignent davantage dans des zones pauvres en facteur tissulaire comme les articulations, que dans les régions qui en sont riches telles que le cerveau.

Montée et déclin de la thrombine

Le rôle central de la thrombine en hémostase et thrombose n'est plus à expliquer ici (pour une discussion plus poussée cf. [1]). Par ses actions sur le fibrinogène, sur les plaquettes et sur les cellules de la paroi vasculaire elle est l'enzyme-clé de l'hémostase aussi bien que de la thrombose. Le but essentiel du système de coagulation est de focaliser la thrombinoformation au siège d'une plaie et de surveiller étroitement la quantité de thrombine produite et le temps pendant lequel elle reste active. Remarquons que sa disparition est aussi essentielle que sa génération! Comme le montre le plus simple et le plus important des schémas de coagulation :

Prothrombinase
Prothrombine ----->
Antithrombines
Thrombine ----->
Produit inactif

La vélocité de production de la thrombine est dépendante de l'activité de la prothrombinase et de la quantité de prothrombine disponible. La vitesse de disparition est proportionnelle à la concentration de thrombine et à la capacité des antithrombines (modifiée par exemple par la présence d'héparines). La thrombine apparaît pour disparaître ensuite, dans un délai déterminé selon la puissance de ses inhibiteurs. Sa demi-vie en plasma normal est de 17 secondes. Une faible concentration d'héparine (0,1 U/ml) la raccourcit facilement à moins de 5 secondes. Générer de la thrombine dans le sang (plasma) est comme remplir une baignoire sans bouchon. Plus le niveau monte, plus la vitesse d'écoulement augmente. Parce que la thrombine est une enzyme, l'effet de toutes ses actions est proportionnelle à sa concentration et à la durée de sa présence. La variable physiologique correspondante est la surface sous la courbe de génération de thrombine. Nous avons appelé cette variable le potentiel de thrombine endogène (PTE) (en anglais ETP, *endogenous thrombin potential*). Cette variable a été utilisée antérieurement, mais jusqu'ici il n'a pas été possible de la déterminer autrement que par des expériences laborieuses et onéreuses. Récemment nous avons trouvé pour la déterminer une méthode facile et aisément adaptable en laboratoire de routine. Le PTE diminue avec toutes les thérapeutiques anticoagulantes mais, fait encore plus intéressant, augmente dans des états prothrombotiques connus (tels que la contraception orale, le déficit en antithrombine III ou les protéines S ou C). Le PTE est nécessairement un meilleur indicateur de la puissance hémostatique et thrombogène du plasma qu'un temps de coagulation. La coagulation proprement dite serait peut-être l'action la plus ostensible de la thrombine mais elle n'en est pas nécessairement sa fonction la plus représentative. Très peu de thrombine suffit pour faire coaguler le sang. Après la coagulation proprement dite, la thrombinoformation est loin d'être terminée (figure 1). La quantité de thrombine produite après la formation du caillot peut toujours agir sur l'ensemble de ses nombreux substrats (plaquettes, cel-

prothrombinase qui y est adsorbée également. Cette diffusion bi-dimensionnelle est significativement plus rapide que la diffusion tri-dimensionnelle qui est à la base des réactions en solution libre. Ainsi la prothrombinase peut-elle développer une vitesse de réaction plus grande que celle théoriquement possible en phase libre. Cet effet, qui se traduit en termes cinétiques par une diminution du K_m , cause une augmentation de la thrombinoformation de cent à mille fois.

À côté du facteur Xa, le facteur Va s'adsorbe aux phospholipides procoagulants (ici la phosphatidyléthanolamine (PE) semble jouer un rôle), et cause l'augmentation de sa vitesse de réaction discutée plus haut. L'ensemble des deux effets (F. Va et phospholipides) fait que la vitesse de thrombinoformation, sur le site d'une plaie (ou sur une plaque athérosclérotique endommagée) est de 10^5 à 10^6 fois plus grande qu'en solution libre par le facteur Xa seul. En pratique la thrombinoformation est donc limitée à ce site. Il nous serait impossible d'achever ce paragraphe sans mentionner l'inactivation du facteur Xa par l'antithrombine III. Ce facteur, en solution libre en plasma a une demi-vie d'environ 80 secondes. Adsorbé à une surface lipidique en présence du facteur Va sa durée de vie augmente d'environ dix fois et récemment nous avons pu démontrer qu'au sein de la prothrombinase le facteur Xa, occupé à couper la prothrombine, est inaccessible à l'antithrombine III, même en présence de fortes concentrations d'héparine. Cette observation a pu être faite dans des conditions qui s'approchent de la situation physiologique: la prothrombine et l'antithrombine (\pm héparine) en solution, circulant dans un capillaire où la prothrombinase est fixée à la paroi.

Restriction temporaire de la coagulation, l'inhibiteur de réactions du facteur tissulaire

La thrombinoformation physiologique est déclenchée par l'interac-

tion du facteur VII (a) avec le facteur tissulaire, une protéine membranaire de certaines cellules périvasculaires. Ce complexe (FT-F.VIIa) active le facteur X. Étant donné que dans le plasma il y a un excès de facteur X, le complexe FT-F.VIIa pourrait en principe en activer une énorme quantité et provoquer ainsi un état prothrombotique dangereux. (Les initiés le compareront au « modèle de Wessler », une thrombose expérimentale provoquée par l'injection de facteurs activés, associée à une stase). Ce risque est limité par l'action du TFPI (« inhibiteur des réactions du facteur tissulaire »). C'est une protéine plasmatique qui, en se liant au facteur Xa, forme un inhibiteur puissant du complexe FT-F.VIIa. Il résulte que l'action du FT-F.VIIa est bloquée dès qu'il y a une certaine concentration de facteur Xa (+ TFPI) disponible. L'activation du facteur Xa est donc autolimitante. Dans les tissus pauvres en thromboplastine, son inhibition peut survenir avant que la formation d'une quantité suffisante de thrombine soit assurée. Là, la nature a recours au fait que le complexe TF-F.VIIa active non seulement le facteur X, mais aussi le facteur IX. Ce facteur s'assemble avec le facteur VIIIa et forme le complexe « tenase », parfaitement similaire à celui de la prothrombinase. Le substrat en est le facteur X. Ainsi le complexe FT-F.VIIa génère un autre complexe qui a la même fonction: activer du facteur X. Le facteur VIII, comme le facteur V, est sujet à l'activation par la thrombine et à l'inactivation par le système thrombine-thrombomoduline-protéines C et S.

Coagulation extravasculaire continue; une hypothèse

Si la question de la poule et de l'œuf a pu être résolue grâce à nos connaissances actuelles de la biologie moléculaire*, la question du déclenchement de la coagulation ne l'est pas. Une fois la première molécule de thrombine formée il est possible d'expliquer les événements suivants, mais d'où vient cette première molécule?

C'est là qu'intervient le concept de

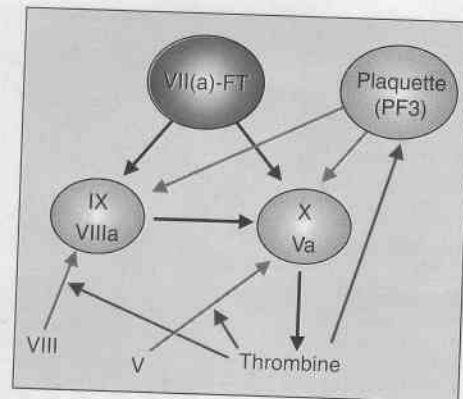


Figure 2. Schéma de la génération de la thrombine, rôle de la rétroactivation. Les flèches noires indiquent l'activation d'un facteur par un autre. Les flèches grises indiquent des conversions chimiques. Les flèches rouges indiquent une action enzymatique. Les ovales représentent des surfaces phospholipidiques procoagulantes.

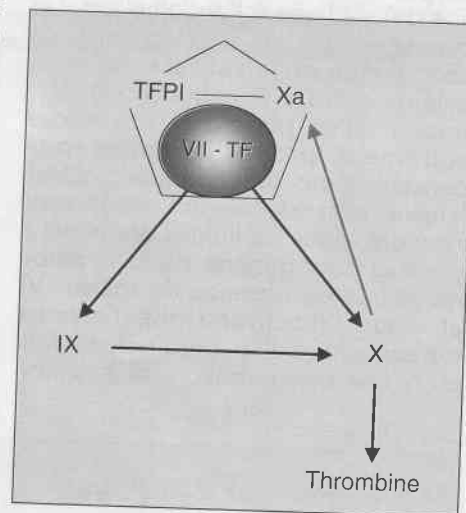


Figure 3. L'inhibition du mécanisme déclencheur par l'inhibiteur des réactions du facteur tissulaire (TFPI). Le pentagone indique le complexe tétrapartite inactif qui résulte de l'action du TFPI-F.Xa. Signification des flèches cf figure 2.

la coagulation extravasculaire continue. La paroi vasculaire est connue pour ne pas être étanche aux protéines. Il est donc vraisemblable que toutes les protéines de la coagulation sont représentées dans l'espace extravasculaire. À l'exception a) des plaquettes, b) du facteur

* À un certain moment dans l'évolution un ancêtre de la poule actuelle a dû pondre le premier œuf de poule à la suite d'une mutation dans une de ses cellules génitrices.

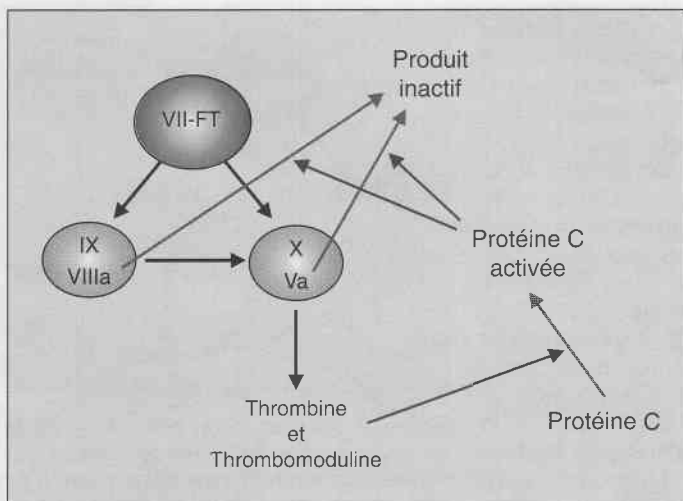


Figure 4. Le mécanisme autolimitatif de la thrombino-génération. Signification des flèches cf figure 2.

VIII, qui lié au facteur Von Willebrand a un poids moléculaire de plusieurs millions et qui reste confiné au plasma et de c) la thrombomoduline qui est fixée à l'endothélium. Les concentrations de ces facteurs de coagulation dans l'espace extravasculaire doivent être beaucoup plus faibles qu'en plasma et pas nécessairement proportionnelles aux concentrations plasmatiques; actuellement elles demeurent inconnues. Pourtant, dans les fluides des tissus il y a tout pour générer de la thrombine (même en absence de facteur V) et pour l'inactiver. Dans l'espace extracellulaire il y aurait donc toujours une concentration de thrombi-

ne très basse mais non négligeable. Si une brèche se produit dans la paroi vasculaire les facteurs de coagulation se répandent donc dans un milieu où déjà « mijote » la coagulation. Par la brèche arrivent ces accélérateurs qui sont le facteur VIII et les plaquettes et le système explose sur le champ.

Conclusion

Dans ce texte nous avons essayé de représenter l'essentiel de la coagulation sanguine. Il nous semble impos-

sible de la contenir dans un seul schéma bi-dimensionnel à la fois simple et compréhensible. La raison en est qu'il ne faut pas représenter uniquement la thrombinoformation mais aussi les mécanismes de sa limitation dans le temps et dans l'espace. Nous proposons donc quatre schémas complémentaires. Le premier (figure 2) représente les voies qui mènent à la formation de la thrombine avec indication des actions autocatalytiques de la thrombine. Le deuxième (figure 3) met en évidence le mécanisme qui assure la restriction de l'action du facteur tissulaire. Le troisième le mécanisme autolimitant de la thrombine (figure 4). La figure 5, enfin, essaye de résumer les caractéristiques fonctionnelles du système. Nous y rencontrons les trois axes essentiels. En vertical l'axe de production de thrombine, c'est-à-dire la cascade classique proprement dite. En horizontal l'axe régulateur, c'est-à-dire l'activation et l'inactivation du facteur V. En troisième dimension, perpendiculaire au plan de la page, on imagine l'axe « focalisateur », c'est-à-dire l'ensemble des mécanismes qui causent la fixation de ces réactions à des parois membranaires et qui ainsi limitent les activités aux sites précis où ils sont nécessaires. En plus, dans ce schéma, sont indiquées les quatre boucles de modulation, deux positives et deux négatives, deux au niveau du facteur Xa, deux au niveau de la thrombine. C'est-à-dire 1 : la boucle limitative du TFPI (négative, facteur Xa); 2 : la boucle renforçante de Jasso (positive, facteur Xa); 3 : la boucle renforçant l'activation du facteur V par la thrombine (positive, thrombine) et 4 : la boucle limitante de la protéine C (négative, thrombine) ■

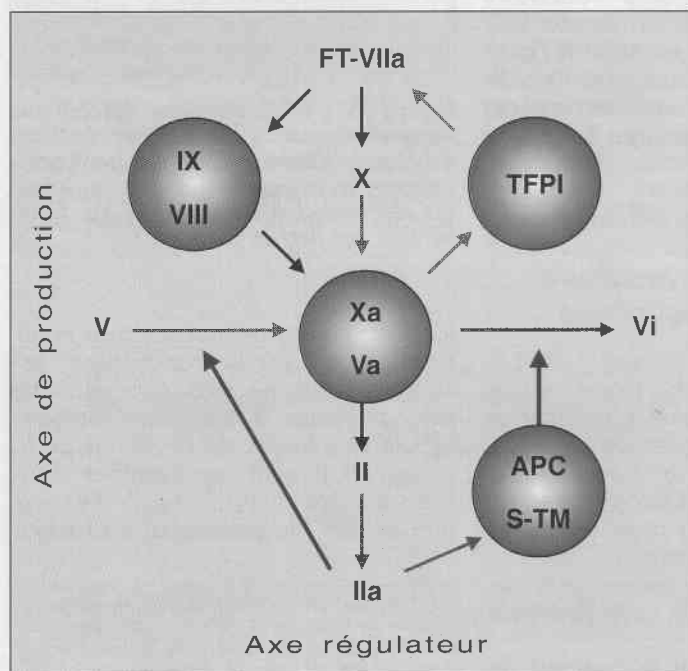


Figure 5. Schéma fonctionnel de la coagulation.

Remerciements

Les auteurs remercient Didier Billy et Vincent Peyroux pour avoir attentivement lu le manuscrit et pour les nombreuses suggestions qui l'ont amélioré.

Summary

Why are diagrammes of haemostasis false?

A diagramme of haemostasis tends to represent the mechanisms involved in the formation of thrombin where a breach needs to be plugged whilst preventing the formation of a thrombus liable to obstruct blood flow in the vessel. The process proceeds essentially in three axes which makes a single diagramme inadequate. The classical mechanism of thrombin formation by sequential proenzyme-enzyme conversions is the production axis; the « regulator » axis corresponds to activation and inactivation of factor V, governing the rate at which the formation of thrombin is modulated; the third axis comprises the reactions at the target site, i.e. at the site of the wound.

The authors also discuss the trigger mechanism related to the tissue factor and its inhibition (TFPI) and the reinforcement loop (Josso), absent in haemophilia, which prevents bleeding in tissues with low concentrations of tissue factor. The inhibition of thrombin being as important as its generation, the authors propose a method of evaluation, the endogenous thrombin potential (ETP). This parameter is derived from the association of the two processes (generation – inhibition). The ETP is decreased by anticoagulant therapy and increased by any thrombogenic state (oral contraception, antithrombin deficit, protein S and C deficits). The measurement of this parameter will soon be possible in all laboratories.

The authors also discuss the process responsible for the localisation of haemostasis at the site of injury. It is essentially due to the fact that the clotting factors are absorbed by a phospholipid surface comprising phosphatidylserines (PS), normally only present on the internal surface of the intact cell membrane. After injury, the damaged cells liberate PS. Only platelets are capable of exposing PS at the intact surface during activation by the so-called « flip-flop » mechanism.

Finally, the authors introduce the concept of latent and continuous extravascular coagulation, a hypothesis which presumes the presence of a very low concentration of thrombin in the extracellular space, so explaining the appearance of the first activated clotting factors as soon as the vessel wall is damaged.